

# 人间充质干细胞无血清培养基（含血替）

货号：CM-SC02

规格：500mL

## 一、产品描述

由普诺赛技术团队精心优化的人间充质干细胞无血清培养基（含血替），经筛选配比的无血清添加物及其他辅助成分。该产品适用于人间质干细胞无血清条件的培养；可维持人间质干细胞良好的增殖速率，并保持良好的分化能力。

人间充质干细胞无血清培养基（含血替）是专为人类间充质干细胞（包括脐带间充质、骨髓间充质、脂肪间充质等干细胞）设计的无血清培养基。在干细胞分离过程中，当细胞贴壁率达到75-85%后，可使用此培养基进行传代。与传统的添加动物血清的培养基相比，人间充质干细胞无血清培养基（含血替）维持间充质干细胞的无分化生长，保持细胞的形态特征和正常的传代次数等，保证间充质干细胞的高增殖率以及分化潜能。

## 二、产品信息

产品名称	包装规格	保存条件	保存期限
CM-SC02无血清基础培养基	500mL/瓶	2-8°C，避光保存	12个月
CM-SC02无血清添加剂	10mL/瓶	-5~-20°C，避光保存	12个月

人间充质干细胞无血清培养基（含血替）的主要组成成分：氨基酸、维生素、无机盐、白蛋白、血清替代物、微量元素等。

## 三、产品使用说明

### 1. 人间充质干细胞完全培养基（含血替）准备

将CM-SC02无血清培养基添加剂在2-8°C过夜融化，按1:50比例加入CM-SC02无血清基础培养基中，即得到人间充质干细胞无血清（含血替）的完全培养基。

温馨提示：配好的人间充质干细胞无血清（含血替）的完全培养基在2-8°C避光条件下，可保存30天。若小量、多次使用，建议您将CM-SC02无血清培养基添加剂分装后，保存于-5~-20°C冰箱，可避免培养基不必要的浪费。

### 2. 人间充质干细胞复苏（以T-75瓶为例）

① 从冰箱中取出完全培养基，在生物安全柜或超净台中吸取适量（如T-75瓶：10-15 mL）完全培养基沿上表面加入间充质干细胞培养瓶中，切勿冲到细胞培养瓶底面，即：细胞生长面。然后慢慢将细胞培养瓶平放，在37°C、恒温CO<sub>2</sub>培养箱中放置5-10分钟后使用。

温馨提示：请严格按照此步骤操作，否则可能会出现细胞培养瓶中细胞生长空白区域，即所谓的“生



长空洞”。多数用户使用的不是专用的预包被细胞培养瓶，而是普通的细胞培养瓶或培养皿，其表面环境并不利于无血清培养环境下的间充质干细胞贴壁。37°C放置5-10分钟，可让培养基中的促贴壁物质更好地与细胞培养瓶底部结合，使得间充质干细胞的贴壁能力增强，降低“生长空洞”出现的概率。

- ② 从液氮中取出冻存的间充质干细胞，迅速将冻存管放入37°C水浴中，快速融解。

温馨提示：尽可能避免水没过管帽，以减少污染的风险；要快速完成细胞复苏过程（尽量控制在1分钟内），融化过程时间过长，会造成复苏后细胞活性较差。

- ③ 用70-75%酒精消毒冻存管外壁，在生物安全柜或超净台中打开冻存管，用吸管/移液器将细胞冻存悬液缓慢移入装有5-10 mL细胞完全培养基的15 mL离心管中（在这一过程请尽可能避免产生气泡）。

温馨提示：为了减少细胞损失，往细胞冻存管中加入1 mL完全培养基，稍微吹打，用吸管/移液器将这1 mL的细胞悬液吸入离心管中，再用吸管/移液器将离心管中的细胞轻轻吹打混匀。

- ④ 1200 rpm离心5 min，弃上清，加入2 mL完全培养基重悬细胞，台盼蓝染色计数，按密度 $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>将细胞接种至步骤①中孵育完的细胞培养瓶中，添加细胞时，将细胞培养瓶竖立，细胞悬液直接加到底部，切忌冲到细胞培养瓶底面。

- ⑤ 轻轻摇晃细胞培养器皿，使细胞均匀分布，混匀后，置于37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中静置培养。

- ⑥ 24 h后，更换新鲜的完全培养基（温育至37°C）。

### 3. 人间充质干细胞传代（以T-75瓶为例）

- ① 在显微镜下观察细胞，当细胞融合度达到80-90%，即可传代。

温馨提示：细胞融合度请勿超过90%。很多传代后的细胞大比例死亡，是由于传代前细胞生长过密（融合度过高），导致细胞消化异常（细胞整片或成片脱落），加之随后的不当操作（如用移液器反复吹打成片细胞使其成为单个细胞），此机械损失过程会严重损害细胞膜，引发大比例的细胞死亡；间充质干细胞经冻存后再次使用时，尤为明显。

- ② 预处理细胞培养瓶，处理方法同细胞复苏中的步骤①。

- ③ 在生物安全柜或超净台中，弃去细胞培养瓶中的培养液，加入5-10 mL PBS清洗细胞后弃去，再加入2 mL 0.05%胰酶-EDTA消化细胞。

- ④ 在显微镜下观察到细胞变圆时，立即加入5 mL胰酶抑制剂终止消化。

- ⑤ 用移液器轻轻吹打瓶壁上还未完全脱离的细胞，并轻轻吹打混匀，使细胞完全分散。

- ⑥ 将细胞悬液转移至15 mL离心管中，1200 rpm离心5 min。弃上清，加入2 mL细胞完全培养基重悬细胞，台盼蓝染色计数，按细胞密度 $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>，将细胞接种至细胞传代②步骤中孵育完的细胞培养瓶中，添加细胞时，将细胞培养瓶竖立，细胞悬液直接加到底部，切忌冲到细胞培养瓶底面。

- ⑦ 轻轻摇晃细胞培养器皿，使细胞均匀分布，混匀后，置于37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中静置培



养。

#### 4. 人间充质干细胞冻存

- ① 用0.05%胰酶-EDTA消化待冻存的细胞，加入胰酶抑制剂终止消化并离心，重悬后进行细胞计数。
- ② 1200 rpm离心5 min，弃上清。
- ③ 根据细胞计数情况，缓慢加入适量冷的无血清冻存液（无血清冻存液可即拿即用或置于冰袋备用），调整细胞密度在 $1 \times 10^6$  cells/mL左右。
- ④ 轻轻地重悬细胞，将重悬均匀的细胞按等份加入到灭菌的冻存管中（需提前做好标记），旋紧冻存管盖。
- ⑤ 迅速将冻存管放入程序降温盒中，然后将冻存盒直接放入-80°C冰箱。
- ⑥ 过夜放置后，将细胞从-80°C冰箱转移至液氮罐中长期保存。

## 四、注意事项

1. 使用本产品时应注意无菌操作，避免污染；
2. 配制成完全培养基后，避光保存在 2-8°C可存放 3-4 周；
3. 为了更好的使用效果，请勿对试剂进行反复冻融；
4. 本产品仅用于科研或进一步研究使用，不用于诊断和治疗。

